

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局



(43) 国際公開日
2005 年 8 月 4 日 (04.08.2005)

PCT

(10) 国際公開番号
WO 2005/070413 A1

- (51) 国際特許分類⁷: A61K 31/203, A61P 9/10, 3/10 (81) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CN, CO, CR, CU, CZ, DE, DK, DM, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, HR, HU, ID, IL, IN, IS, JP, KE, KG, KP, KR, KZ, LC, LK, LR, LS, LT, LU, LV, MA, MD, MG, MK, MN, MW, MX, MZ, NA, NI, NO, NZ, OM, PG, PH, PL, PT, RO, RU, SC, SD, SE, SG, SK, SL, SY, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, YU, ZA, ZM, ZW.
- (21) 国際出願番号: PCT/JP2005/000743
- (22) 国際出願日: 2005 年 1 月 21 日 (21.01.2005)
- (25) 国際出願の言語: 日本語
- (26) 国際公開の言語: 日本語
- (30) 優先権データ:
特願2004-015236 2004 年 1 月 23 日 (23.01.2004) JP
- (71) 出願人 (米国を除く全ての指定国について): 独立行政法人科学技術振興機構 (JAPAN SCIENCE AND TECHNOLOGY AGENCY) [JP/JP]; 〒3320012 埼玉県川口市本町四丁目 1 番 8 号 Saitama (JP).
- (72) 発明者; および
- (75) 発明者/出願人 (米国についてのみ): 山口 葉子 (YAMAGUCHI, Yoko) [JP/JP]; 〒2580022 神奈川県足柄上郡開成町牛島 2 7-1 7 Kanagawa (JP). 五十嵐 理恵 (IGARASHI, Rie) [JP/JP]; 〒2140036 神奈川県川崎市多摩区南生田 5-8-2 Kanagawa (JP).
- (74) 代理人: 園田 吉隆, 外 (SONODA, Yoshitaka et al.); 〒1630453 東京都新宿区西新宿二丁目 1 番 1 号 新宿三井ビル 5 3 階 園田・小林特許事務所 Tokyo (JP).
- (84) 指定国 (表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, GH, GM, KE, LS, MW, MZ, NA, SD, SI, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, MD, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, MC, NL, PL, PT, RO, SE, SI, SK, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, ML, MR, NE, SN, TD, TG).
- 添付公開書類:
— 国際調査報告書
- 2 文字コード及び他の略語については、定期発行される各 PCT ガゼットの巻頭に掲載されている「コードと略語のガイダンスノート」を参照。

(54) Title: RETINOIC ACID-CONTAINING REMEDY FOR DIABETES

(54) 発明の名称: レチノイン酸を含有する糖尿病治療薬

(57) Abstract: It is intended to provide a novel remedy and/or a preventive for diabetes with which not only blood glucose level can be controlled but also a patient with type I diabetes suffering from destruction of β cells and a patient with II diabetes suffering from dysfunction in insulin secretion can be fundamentally treated. Namely, a remedy and/or a preventive for diabetes containing retinoic acid as the active ingredient. The retinoic acid to be employed as the active ingredient may be all-trans-retinoic acid, an isomer thereof, a derivative thereof, a salt thereof or a prodrug thereof. Retinoic acid may be employed alone. Alternatively, use may be made of complex grains prepared from retinoic acid together with an appropriate inorganic or organic substance.

(57) 要約: 血糖値をコントロールすることのみならず、 β 細胞が破壊された I 型糖尿病やインスリン分泌機能が低下した II 型糖尿病の患者を根本的に治療できる新規な糖尿病の治療及び/又は予防薬を提供することを目的とする。本発明は、レチノイン酸を有効成分として含有する糖尿病の治療及び/又は予防薬を提供する。有効成分として配合されるレチノイン酸は、全トランス-レチノイン酸、その異性体、誘導体、塩、又はプロドラッグであつてよい。レチノイン酸は、単独で配合しても、適当な無機又は有機物質とレチノイン酸との複合粒子を調製し、そのレチノイン酸複合粒子を配合してもよい。

WO 2005/070413 A1

明 細 書

レチノイン酸を含有する糖尿病治療薬

技術分野

- [0001] 本発明は、レチノイン酸を有効成分として含有する、糖尿病又はその関連疾患を予防及び／又は治療する薬剤に関する。より詳細には、血糖値をコントロールするのみならず、膵臓の β 細胞に直接作用する糖尿病薬に関する。

背景技術

- [0002] 現在、我が国では約600万人の糖尿病患者がいるといわれており、特に40歳以上ではその10人に1人が糖尿病であるという統計もある。糖尿病とは、「インスリンの作用不足に基づく慢性の高血糖を主徴とする代謝疾患群」と定義されており（日本糖尿病学会、糖尿病の分類と診断基準に関する委員会報告1999年）、主に、インスリンを分泌する膵臓の β 細胞が何らかの原因で破壊されインスリンが欠乏してしまうために引き起こされるI型糖尿病と、膵臓からのインスリン分泌が低下した状態とインスリンの効果が不十分な状態（インスリン抵抗性の状態）が相俟って生じるII型糖尿病とに分類される。高血糖の状態が続くと、糖尿病の三大合併症といわれる網膜症、腎症、及び神経障害の他、脳卒中・心筋梗塞などの重篤な病態を引き起こす原因ともなり得る。
- [0003] 近年、高血糖の発症メカニズムが明らかにされつつあり、従来のスルホニル尿素剤（SU）剤などの経口薬とインスリン製剤を主体とした糖尿病治療に加えて、新たな作用機序に基づいて、肝臓における糖新生や放出を阻害したり骨格筋や脂肪細胞における糖利用や貯蔵を促進するビグアナイド（BG）薬、腸管での糖吸収を低下させる α -グルコシダーゼ阻害薬、インスリン分泌は促進せずインスリンの作用を直接強めるインスリン作用増強薬（インスリン抵抗性改善薬）などが使用されている（非特許文献1）。また、膵臓の β 細胞に直接作用する薬剤としては、上記SU剤以外の新規インスリン分泌促進薬としてNN-623、AY4166等が知られている（非特許文献1）。
- [0004] しかしながら、これらの経口薬は、いずれもインスリン分泌が保たれている患者には有効であるが、インスリン分泌が認められないI型糖尿病患者には有効とはいえず、

そのような患者は血糖値を抑制するためのインスリン注射が欠かせない。また、II型糖尿病患者であっても、食事・運動療法および経口薬で十分な血糖コントロールが得られない場合、重症肺炎などの重症感染症を合併した場合、手術時、重症腎障害や重症肝障害を合併した場合、あるいは糖尿病性昏睡の時などにはインスリン注射が必要となる場合がある。

[0005] 非特許文献1: 太田眞夫、日医大誌、1999年、第66巻、第3号、第39-42頁

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0006] 上記したように、従来の糖尿病治療薬は、血糖値をコントロールすることを主目的としており、 β 細胞が破壊されたI型糖尿病やインスリン分泌機能が低下したII型糖尿病の患者は、煩雑なインスリン注射に頼らざるを得ないのが現状である。よって、破壊された又は機能低下した膵臓に直接作用し、糖尿病を根本的に治療できる医薬が求められている。

課題を解決するための手段

[0007] 本発明者等は、従来からレチノイン酸に関する研究を独自に行っており、レチノイン酸をインビゴ投与した場合に膵臓の機能を回復させることを初めて見出し、本発明をなすに至った。

よって本発明は、レチノイン酸を有効成分として含有する糖尿病の治療及び／又は予防薬を提供し、それにより上記の課題を解決することができる。

発明の効果

[0008] 本発明に係る糖尿病の治療及び／又は予防のための医薬は、膵臓(β 細胞)に直接作用して機能を再生させると考えられる。よって、本発明の医薬は、インスリン抵抗性のII型糖尿病患者における血糖値調節のみならず、 β 細胞が破壊されたI型糖尿病患者に対しても有効である。

さらに、 β 細胞を含む膵臓に作用してインスリン分泌能を向上させることにより、血糖値を適切な範囲に保つことができるので、高血糖に付随する種々の合併症等の予防及び治療にも有効である。

図面の簡単な説明

[0009] [図1]レチノイン酸投与有無の糖尿病ラットの体重変化を示すグラフである。(A)レチノイン酸(6mg)投与ラット;(B)レチノイン酸無機物質(CaCO_3)複合粒子(6mg)投与ラット;(C)レチノイン酸有機物質(PLGA)複合粒子(6mg)投与ラット;(D)対照(レチノイン酸無投与)ラット。

[図2]レチノイン酸無機物質複合粒子(LA/ CaCO_3)(6mg)を投与した糖尿病ラット、及び対照(LA無投与)の糖尿病ラットの100日目における外観を示す写真である。

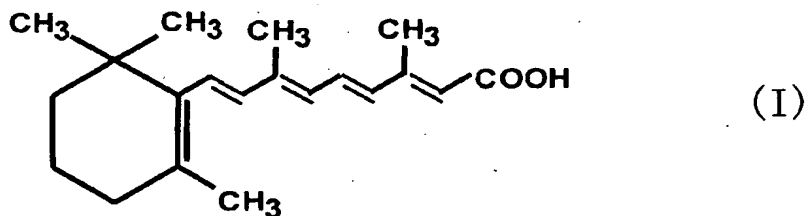
[図3]レチノイン酸投与有無の糖尿病ラットの(a)体重変化、(b)血漿インスリン濃度変化、及び(c)血中グルコース濃度変化を示すグラフである。●:レチノイン酸有機物質(PLGA)複合粒子(6mg)投与ラット;■:対照(レチノイン酸無投与)ラット。

[図4]レチノイン酸投与有無の糖尿病ラットの血漿インスリン濃度変化を示すグラフである。RA:レチノイン酸投与ラット;Ra-Ca:レチノイン酸無機物質(CaCO_3)複合粒子投与ラット;RA-PLGA:レチノイン酸有機物質(PLGA)複合粒子投与ラット;対照:レチノイン酸無投与ラット。カッコ内の数値は投与量を示す。

発明を実施するための最良の形態

[0010] 本発明の医薬は、有効成分としてレチノイン酸を含有することを特徴とする。レチノイン酸はビタミンAに由来する脂溶性の小分子であり、主な異性体として全トランスレチノイン酸と9-cis-レチノイン酸が知られている。本発明の医薬においては、下記式(I)で表される全トランスレチノイン酸(all-trans retinoic acid)が好ましく使用される。

[化1]



[0011] レチノイン酸は、未分化細胞に対する分化誘導作用を有し、形態形成においてモルフォゲン(morphogen)様の作用を発揮することが示唆されている。この分化誘導作

用に基づいて、急性前骨髄球性白血病 (APL: acute promyelocytic leukemia) の治療薬として臨床的に使用されている。また、最近の再生医療の研究において、アフリカツメガエルの初期原腸胚の原口上唇部をレチノイン酸で処理し、その後培養することによって、インビトロで膵臓への分化を誘導する方法が提案されている (特開2001-299335号公報)。

[0012] 即ち、レチノイン酸が高等生物の未分化細胞の分化を調節し、胚発生過程から膵臓を再生することはインビトロで再現されているが、従来の研究対象は、あらゆる組織 (臓器) に分化する可能性を持った全能性の胚性幹細胞であり、レチノイン酸が各臓器由来の体性幹細胞に対してインビボで如何なる作用をするのかについての知見は何ら得られていない。本発明は、レチノイン酸がインビボで膵臓に作用し、 β 細胞のインスリン分泌能を回復させて血糖調節機能を改善できるという新たな知見に基づいている。

[0013] 本発明の医薬の有効成分として使用されるレチノイン酸は、上記式 (I) で表される全トランス-レチノイン酸が好ましいが、その異性体、エステル等の誘導体、塩、又はプロドラッグであってもよい。

さらに、本発明の医薬にあつては、レチノイン酸をそのまま配合してもよいが、適当な無機又は有機物質とレチノイン酸との複合粒子を調製し、そのレチノイン酸複合粒子を有効成分として配合するのも好ましい。

[0014] レチノイン酸複合粒子としては、カルシウムや亜鉛の炭酸塩又はリン酸塩といった無機物質あるいは生分解性高分子等の有機物質で表面修飾した粒子及び当該物質と一体化した固形粒子などが挙げられる。これらのレチノイン酸複合粒子は、レチノイン酸の表面の全体又は一部を無機又は有機物質で被覆した形態、あるいは無機又は有機物質からなる固形粒子の内部にレチノイン酸を分散させた形態とすることができるが、これらに限られるものではない。このような複合粒子を用いることにより、レチノイン酸自体が持つ刺激性が緩和され、皮下に注射しても腫瘍化の危険性が低下し、当該粒子に包含された活性物質であるレチノイン酸の徐放性が確保される。

[0015] レチノイン酸無機物質複合粒子は、例えばレチノイン酸の両親媒性を利用することにより調製することができる。具体的には、無機物質として炭酸カルシウムを選択した

場合を例にすると、まず、レチノイン酸を少量の極性有機溶媒とともにアルカリ性水性媒体中に分散させることにより表面がマイナス荷電で覆われた球状ミセルを形成させる。このとき、非イオン性界面活性剤を添加してレチノイン酸と非イオン性界面活性剤の混合ミセルとすることにより、ミセル同士の凝集・沈澱を防ぐことができる。さらに塩化カルシウムを添加することによりミセル表面のマイナス荷電にカルシウムイオン(Ca^{2+})を吸着させて、表面がカルシウムイオンで覆われた球状、もしくは卵形等を有するミセルとする。さらに、炭酸ナトリウムを添加して炭酸イオン(CO_3^{2-})等の無機酸イオンをミセル表面のカルシウムイオンに吸着(結合)させて、ミセル表面荷電を中和させる。その結果、レチノイン酸粒子表面に炭酸カルシウムの皮膜が形成され、無機物質で表面修飾されたレチノイン酸複合粒子が得られる。

[0016] ここで、レチノイン酸を分散させるときに使用する極性溶媒としては、エタノール、メタノール、アセトン、酢酸エチル、又はジメチルスルホキシド等が挙げられるが、経皮投与する場合には、刺激性の少ないエタノール又はメタノールが好ましい。

無機物質としては、カルシウム、マグネシウム、亜鉛等の多価金属、特に2価金属の無機酸塩、例えば、炭酸塩、リン酸塩等が使用され、生体適合性を有する多価金属無機酸塩とするのが好ましい。

多価金属は、塩化物、酢酸化物、ハロゲン化物等の形態、例えば、塩化カルシウム、塩化マグネシウム、酢酸亜鉛等として添加される。無機酸は、アルカリ金属塩の形態、例えば炭酸ナトリウム、リン酸ナトリウム等として添加される。

[0017] なお、上記の調製方法において使用する非イオン性界面活性剤としては、例えば、ポリオキシキシエチレン(20)ソルビタンモノオレート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノラウレート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノステアレート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタンモノパルミテート、ポリオキシエチレン(20)ソルビタントリオレート、ポリオキシエチレン(8)オクチルフェニルエーテル、ポリオキシエチレン(20)コレステロールエステル、ポリオキシエチレン(30)コレステロールエステル及びポリオキシエチレン硬化ヒマシ油等が挙げられる。市販されているものとして、Tween 80等を挙げることができる。

[0018] また、添加する多価金属(塩化物塩等)と、無機酸(ナトリウム塩等)との重量比を1:

0.05〜0.33、好ましくは1:約0.2とすることにより、約5〜1000nmの粒子径を有するレチノイン酸無機物質複合粒子の透明な水性懸濁液を得ることができる。

さらに、本発明者等は、レチノイン酸のミセル表面に多価金属無機塩の皮膜を形成させる段階で、添加する塩化カルシウム等の多価金属塩と、炭酸またはリン酸等の無機酸のアルカリ金属塩とのモル比を約1:0〜1.0の範囲内に調整することにより、5〜300nm程度の平均粒径を有する複合粒子(ナノ粒子)を調製し得ることを見出した。このようにナノメートルオーダーの小さな粒径を有する複合粒子は、レチノイン酸を皮下あるいは静脈内投与する場合、または皮膚投与(塗布投与等)して経皮吸収させる場合に特に好ましい。

[0019] 上記の方法でミセル表面に形成される炭酸カルシウム等の多価金属無機酸塩は、いわゆるガラス構造を有するアモルファスもしくは準安定相であるバテライト構造を有しているため、皮膜の水への溶解性が高く、生分解性が向上し、容易に分解される。その結果、得られたレチノイン酸炭酸カルシウム複合粒子を生体内に投与等した場合には、ミセル表面の炭酸カルシウム皮膜層が容易に分解し、内包されているレチノイン酸が放出され、その結果、薬効を徐放的に発揮できることが確認された。

実際に、レチノイン酸炭酸カルシウム複合粒子の水性懸濁液をラットに皮下注射した場合、あるいは当該複合粒子をワセリン基剤とともに皮膚表面に塗布した場合、投与部位の腫瘍化を生ずることなく、レチノイン酸単体を使用した場合に比較して格段に優れた吸収性を示した。

[0020] 一方、有機物質とレチノイン酸との複合粒子は、例えば乳酸/グリコール酸共重合体(PLGA)やポリ乳酸(PGA)といった生分解性ポリマーを用いて、一般的な粒子作成方法(液中乾燥法)に従って調製することができる。具体的には、生分解性高分子多価金属塩のハロゲン化炭化水素溶液にレチノイン酸を分散させ、得られた分散物をポリビニルアルコール水溶液等に分散するとともにハロゲン化炭化水素を蒸発せしめて粒子化し、得られた粒子を蒸留水等で洗浄することにより調製される。

[0021] 生分解性高分子として使用される乳酸/グリコール酸共重合体としては、D-体、L-体およびこれらの混合物のいずれでもよいがラセミ体が好んで使用される。乳酸/グリコール酸共重合体の共重合比(乳酸/グリコール酸;モル%)は、約95/5〜45

／55が好ましい。さらに好ましくは90／10ー45／55である。その重量平均分子量は、およそ3,000ー20,000が好ましく、さらに好ましくは3,000ー15,000である。乳酸／グリコール酸共重合体の分散度(重量平均分子量／数平均分子量)は、1.2ー4.0、好ましくは1.2ー2.5程度とする。これらの共重合体は自体公知の方法にしたがって合成される。中でも、無触媒脱水縮合法で製造されたものが好ましい。

- [0022] 本発明において、共重合比、重量平均分子量の異なる2種以上の乳酸／グリコール酸共重合体を任意の割合で混合して用いてもよい。例えば、共重合比が50／50で重量平均分子量が約6,000の共重合体と共重合比が50／50で重量平均分子量が約3,000の共重合体の混合物などが使用される。混合するときの重量比は、75／25から25／75が適当である。本明細書中の重量平均分子量ならびに数平均分子量は、ポリスチレンを標準物質としたゲル浸透クロマトグラフィーによって測定した値を意味している。
- [0023] 上記調製方法においては、生分解性高分子とともに使用される多価金属の塩またはその酸化物としては、生体に悪影響を及ぼさない金属塩または金属酸化物であれば特に限定されない。アルカリ土類金属(カルシウム、マグネシウムなど)、亜鉛、鉄、銅、錫、アルミニウムなどと無機酸あるいは有機酸などの塩、あるいはそれらの金属の酸化物が用いられる。金属は、好ましくはアルカリ土類金属、亜鉛、鉄、アルミニウム、特に亜鉛、カルシウムが好ましく用いられる。無機酸としては、塩酸、硫酸、硝酸、チオシアン酸等が挙げられる。有機酸としては脂肪族カルボン酸、芳香族カルボン酸が用いられる。
- [0024] また、溶媒であるハロゲン化炭化水素としては、炭素数1または2の塩素化飽和炭化水素および炭素数1または2のフッ素化飽和炭化水素が好ましく用いられる。これらの具体例としては、クロロホルム、塩化メチレン、1,2-ジクロロエタン、1,1-ジクロロエタン、モノフルオロメタン、ジフルオロメタン等を挙げることができる。溶液は、生分解性高分子、多価金属の塩またはその酸化物およびハロゲン化炭化水素の合計重量に基づいて、生分解性高分子および多価金属の塩または酸化物をそれぞれ好ましくは10ー90重量%および0.01ー3重量%、より好ましくは30ー80重量%および0.01ー2重量%で含有する。

- [0025] 上記液中乾燥法において、ポリビニルアルコールに換えて、水と混和性の他の有機溶媒、例えば水酸基を1〜3個有する脂肪族有機化合物を用いてもよく、このような化合物としては、グリセリン、ポリエチレングリコール、プロピレングリコール、エチルアルコール、イソプロピルアルコール、ベンジルアルコールなどが挙げられる。
- [0026] 本発明の医薬は、通常、レチノイン酸あるいは無機又は有機物質とのレチノイン酸複合粒子を薬理学的に許容し得る担体と混合して得られる組成物の形態で提供される。ここで、薬理学的に許容される担体としては、製薬分野で慣用されている各種有機又は無機担体物質が用いられ得る。
- [0027] 注射液などの液状製剤とする場合、注射用水、生理的食塩水、リンゲル液、アルコール、プロピレングリコール、ポリエチレングリコール、ゴマ油、トウモロコシ油、オリーブ油、綿実油などの媒体に、レチノイン酸あるいはレチノイン酸複合粒子を分散又は溶解させる。特に、レチノイン酸を水性媒体に分散させた水性懸濁液とするのが好ましい。液体製剤は、上記の媒体に加えて、溶解補助剤、懸濁化剤、等張化剤、緩衝剤、防腐剤、抗酸化剤などの付加的成分を含有してもよい。
- [0028] また、本発明の医薬は、上記液状製剤を凍結乾燥させた製剤、あるいは、有効成分を固化させた製剤といった固形製剤の形態で提供してもよく、使用時に適当な溶媒に分散あるいは溶解させて注射液としてもよい。固形製剤とする場合には、賦形剤、結合剤、又は崩壊剤といった付加成分を配合してもよい。
- 本発明の医薬の剤形としては、通常は、上記のような注射液などの液状製剤を意図した剤形とされるが、投与方法によっては、外用剤（軟膏等）、坐剤、ペレット、経鼻剤、吸入剤等の非経口剤又はカプセル等の経口剤とすることもできる。
- [0029] このようにして調製される本発明の医薬は、糖尿病（I型糖尿病、II型糖尿病を含む）の予防及び／又は治療、さらには、高血糖に付随する種々の疾患の予防及び／又は治療に有効である。
- [0030] 本発明の医薬の投与量は、投与患者、投与経路、症状などによって異なるが、例えば成人の糖尿病患者に経口投与する場合、有効成分であるレチノイン酸を、通常、体重1kg当たり約0.01〜100mg/kg、好ましくは0.05〜30mg、さらに好ましくは0.1〜10mgを1回量とし、この量を1日1回〜3回投与するのが好ましい。

- [0031] なお、本発明の医薬は、膵臓の β 細胞に直接作用して糖尿病を改善し血糖値を正常に戻すことを特徴としており、従来の血糖調節剤のように低血糖状態を発症する危険性が低いと思われる。従って、インスリン製剤、インスリン抵抗性改善剤、 α -グルコシダーゼ阻害剤、ビッグアニド剤、インスリン分泌促進剤(SU剤)といった従来の血糖値調節を意図した薬剤と併用しても差し支えない。

実施例 1

[0032] レチノイン酸製剤の調製

レチノイン酸は、市販のレチノイン酸(固体粒子)をそのまま使用した。

(1)レチノイン酸無機物質複合粒子の調製

レチノイン酸13.6mgを900 μ Lのエタノール(またはメタノール)に溶解し、この溶液に0.5N-NaOH水溶液の100 μ Lを加えた。このときのpHは、7-7.5であった。この溶液を母液として100 μ L採取し、これをTween 80(商品名)を含む蒸留水100 μ Lに加え、よく攪拌した。約30分後に、5M-塩化カルシウム含有水溶液を加え攪拌し、さらに30分後に1M-炭酸ナトリウム含有水溶液を加え、さらに攪拌した。一昼夜攪拌を継続した後、得られた溶液を一夜凍結乾燥し、目的とするレチノイン酸炭酸カルシウム複合粒子を作製した。

[0033] (2)レチノイン酸有機物質複合粒子の調製

PLGA(7.16g)、ZnO(40mg)及びレチノイン酸(800mg)をジクロロメタン中に投入し、vortex mixerで均一に分散させた。その後、事前に16gのポリビニルアルコール(分子量4.5万)及び11.2gの酢酸亜鉛を溶解した蒸留水(1600mL)中に前記の溶液をバイアルより注入し、約3時間攪拌し、ジクロロメタンを蒸発させた。ジクロロメタンが蒸発することによって形成された粒子を遠心分離機を使って蒸留水より分離した。沈殿として分離された粒子を蒸留水によって数回洗浄し、その後125 μ mのふるいで湿式濾過を行い、粒子サイズを統一させた。最後に、凍結乾燥機にて約一昼夜乾燥させた。

上記のように準備したレチノイン酸並びに無機及び有機物質とのレチノイン複合粒子を、生理食塩水に所定濃度(3-12mg/mL)で分散させて注射液を調製した。

実施例 2

[0034] 実施例1で調製した注射液(レチノイン酸6mg配合)を、18ー21ゲージの注射針を装着したシリンジで、糖尿病ラットの背部に1mL皮下注射を行った。18ゲージ針を使用した場合は、注射後外科用アロンアルファ(商品名)にて部位を封入し液漏れを防止した。

[0035] その後、各ラットの体重変化を観察し、その結果を示したのが図1である。図1に見られるように、レチノイン酸を投与していない対照ラット(D)は、その体重が徐々に減少しているのに対し、レチノイン酸投与ラット(A)ー(C)では、当初は体重減少が見られるものの、その後体重が増加する傾向が見られた。特に、レチノイン酸有機物質複合粒子製剤を投与したラット(C)では、短期間の体重減少の後に体重増加傾向に転じた。

測定開始後100日目のレチノイン酸(無機物質複合粒子)投与ラットと、対照(レチノイン酸非投与)ラットの外観を示す写真を図2に示す。対照ラットは体重減少により痩せているが、レチノイン酸投与ラットは体重減少が抑制されて回復したことがわかる。

なお、レチノイン酸の投与量を3mg及び12mgに換えた場合も同様の傾向が見られた。

実施例 3

[0036] 実施例2において、レチノイン酸有機物質(PLGA)複合粒子(6mg)を投与した糖尿病ラットと、対照(レチノイン酸無投与)の糖尿病ラットの、約40日目までの体重変化を図3(a)に示し、同時期の各ラットにおける血漿インスリン濃度変化及び血中グルコース濃度変化を図3(b)及び(c)に示す。図中、●はレチノイン酸有機物質(PLGA)複合粒子(6mg)投与ラットを示し、■は対照(レチノイン酸無投与)ラットを示す。レチノイン酸を投与していない対照ラットでは、血漿インスリン濃度が不変又は徐々に減少する傾向が見られるのに対し、レチノイン酸有機物質複合粒子(LA/PLGA)を投与したラットでは、約15日後を極小点として、その後は血漿インスリン濃度が上昇する傾向が見られた(図3(b))。

[0037] さらに、血中グルコース濃度の変化を示す図3(c)では、ラットを絶食させない条件で測定したため、データのばらつきが大きくなっているが、図3(a)及び(b)と対比すると、血漿インスリン濃度の変化に応じて血中グルコース濃度(血糖値)が増減する傾

向が見られる。これらの結果は、図1に示した体重変化が、糖尿病の進行(対照ラット)及び回復(投与ラット)によることを裏付けるものと言うことができる。

レチノイン酸には、インスリン分泌を直接的に刺激する作用はないので、レチノイン酸を投与することによって膵臓 β 細胞の機能が回復し、インスリン分泌活性が向上することにより血中グルコース濃度が抑制され、糖尿病の症状が緩和されたものと考えることができる。

実施例 4

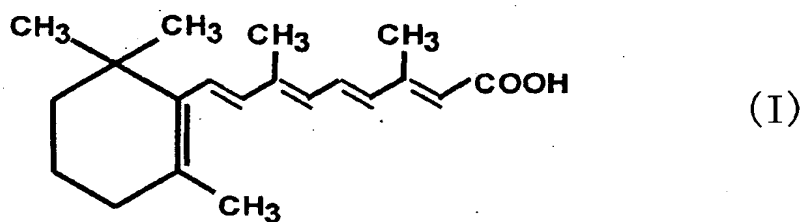
- [0038] レチノイン酸投与前後における各条件のラットの血漿インスリン濃度変化を比較したのが図4である。投与前と投与後42日目の値を比較すると、レチノイン酸を投与しない対照ラットではインスリン濃度の変化が見られないのに対し、レチノイン酸を投与したラットでは、いずれの条件においても、投与前に比較してインスリンレベルが上昇した。また、投与後141日目においても、対照ラットに比較すると投与ラットのインスリンレベルが高い傾向が見られた。

請求の範囲

[1] レチノイン酸を有効成分として含有することを特徴とする糖尿病の治療又は予防用の医薬。

[2] レチノイン酸が下記式(I)：

[化1]



で表される全トランス-レチノイン酸であることを特徴とする請求項1に記載の医薬。

[3] レチノイン酸の水性懸濁液の形態であることを特徴とする請求項1に記載の医薬。

[4] レチノイン酸がレチノイン酸と無機物質又は有機物質との複合粒子の形態であることを特徴とする請求項1に記載の医薬。

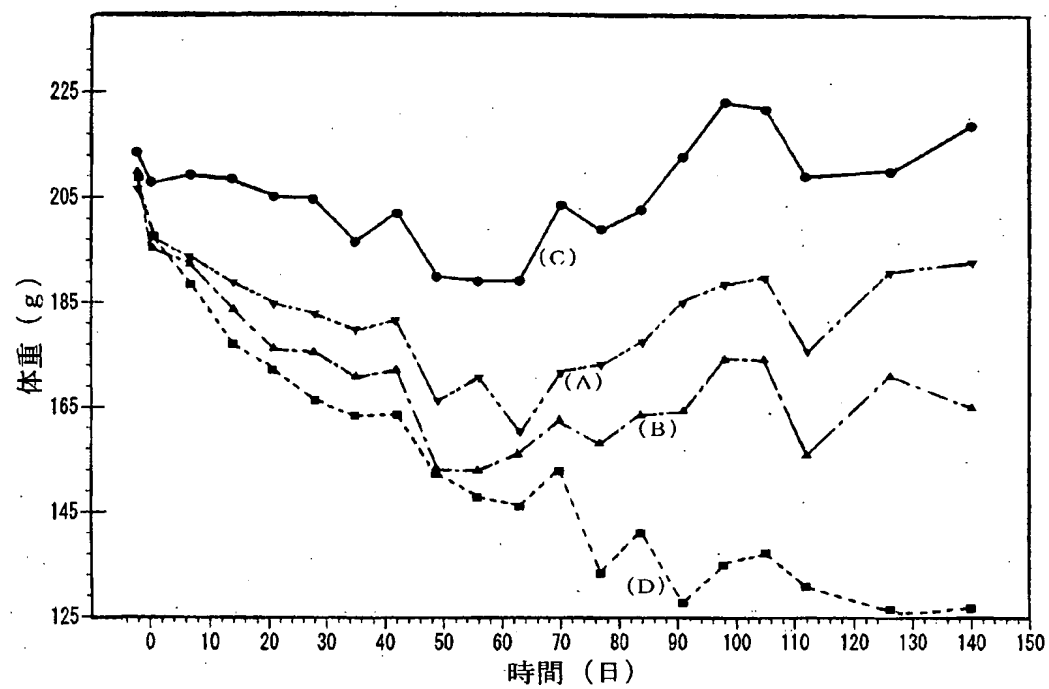
[5] 前記無機物質が、多価金属無機酸塩であることを特徴とする請求項4に記載の医薬。

[6] 前記有機物質が、生分解性高分子であることを特徴とする請求項4に記載の医薬。

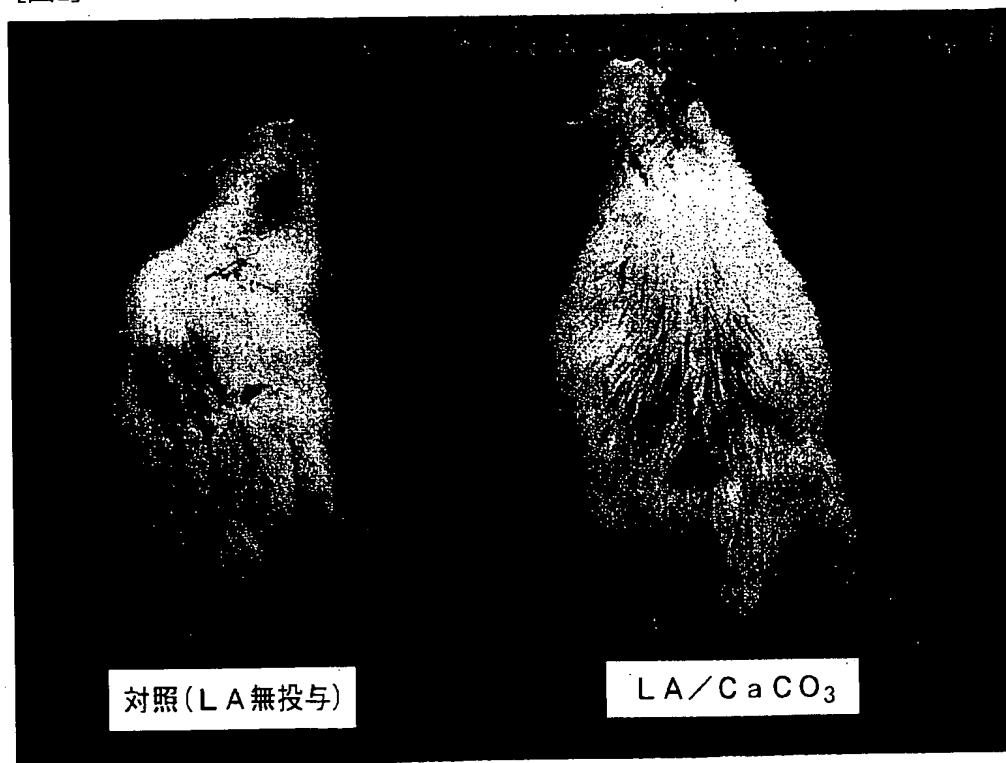
[7] 前記複合粒子が、5〜300nmの平均粒径を有するナノ粒子であることを特徴とする請求項4に記載の医薬。

[8] レチノイン酸を有効成分として含有することを特徴とする膵臓β細胞を活性化させるための医薬。

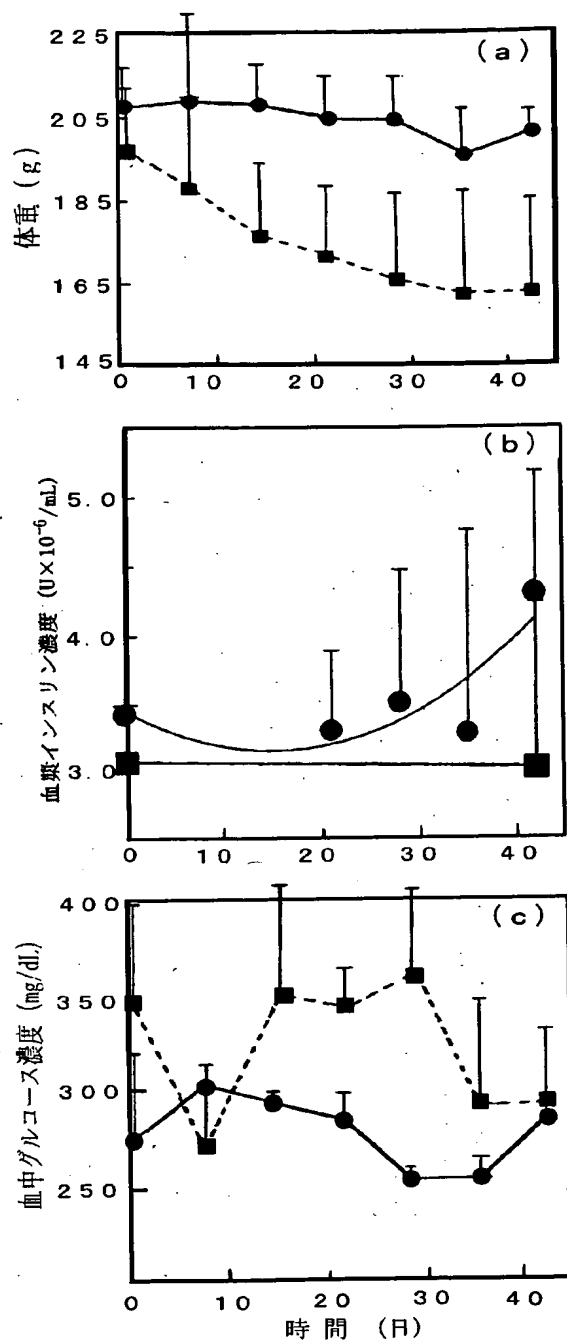
[図1]



[図2]



[図3]



[図4]

